

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003 年 10 月 23 日 (23.10.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/086466 A1(51) 国際特許分類⁷:
31/47, A61P 7/02, 31/04, 43/00

A61K 45/00,

(74) 代理人: 佐伯 憲生 (SAEKI, Norio); 〒103-0027 東京都
中央区日本橋三丁目 1 5 番 2 号 高愛ビル 9 階 Tokyo
(JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/04627

(22) 国際出願日: 2003 年 4 月 11 日 (11.04.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-111247 2002 年 4 月 12 日 (12.04.2002) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 興和
株式会社 (KOWA COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒460-
8625 愛知県名古屋市中区錦三丁目 6 番 2 9 号 Aichi
(JP). 日産化学工業株式会社 (NISSAN CHEMICAL
INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒101-0054 東京都千代
田区神田錦町 3 丁目 7 番地 1 Tokyo (JP).(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,
OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 笈田 耕治
(OIDA, Koji) [JP/JP]; 〒910-1104 福井県吉田郡松岡
町下合月 2 3 Fukui (JP).2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL THROMBOMODULIN EXPRESSION PROMOTERS

(54) 発明の名称: 新規なトロンボモジュリン発現促進剤

(57) Abstract: It is intended to provide a novel pharmacological effect of HMG-CoA reductase inhibitors, in particular, (+)-(3R,5S,6E)-7-[2-cyclopropyl-4-(4-fluorophenyl)-3-quinolyl]-3,5-dihydroxy-6-heptenoic acid or its salt. Namely, TM expression promoters, more specifically speaking, antithrombotic drugs, preventives/remedies for sepsis, antiplatelet drugs and anticoagulants comprising as the active ingredient an HMG-CoA reductase inhibitor, in particular, (+)-(3R,5S,6E)-7-[2-cyclopropyl-4-(4-fluorophenyl)-3-quinolyl]-3,5-dihydroxy-6-heptenoic acid or its salt.

(57) 要約: 本発明は、HMG-CoA 還元酵素阻害剤、特に (+)-(3R, 5S, 6E)-7-[2-シクロプロ
ピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩の新規な薬理
作用を提供するものである。本発明は、HMG-CoA 還元酵素阻害剤、特に (+)-(3R, 5S, 6E)-7-
[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はそ
の塩を有効成分とする TM 発現促進剤、より具体的には抗血栓剤、敗血症予防・治療剤、抗血小板剤、及び抗凝固
剤に関する。

WO 03/086466 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

明 細 書

新規なトロンボモジュリン発現促進剤

技術分野

本発明はHMG-COA還元酵素阻害剤、特に(+)-(3R, 5S, 6E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩（以下、ピタバスタチンと略すことが有る）を有効成分とするトロンボモジュリン発現促進剤に関する。トロンボモジュリンは抗血液凝固物質であり、血液凝固能異常に関わる疾患及び／又は敗血症の予防及び治療剤として有用である。また、本発明は、ピタバスタチン又はその塩を有効成分とする抗血栓剤、敗血症予防・治療剤、抗血小板剤、及び抗凝固剤に関する。

背景技術

トロンボモジュリン（以下、TMと略すことがある。）は、血管内皮細胞膜上に存在する糖蛋白のひとつであり、トロンビンに結合し、トロンビンによるプロテインC活性化の補酵素として、主に血液凝固系の調節因子として機能している。

また近年、敗血症患者において活性型プロテインCが減少していることが明らかとなっており、プロテインC活性化の補酵素であるTMが敗血症の予防・治療剤として有望視されている（N Engl J Med, Vol. 344, No.10 759-762 (2001)）。

HMG-COA還元酵素阻害剤（以下、スタチンと略すことが有る。）は、本来のLDL-コレステロール低下作用の他に、脂質代謝以外への効果、すなわち内皮細胞機能の改善、平滑筋細胞の増殖・遊走の抑制、プラークの安定化（マクロファージ泡沫化抑制やマトリクスプロテアーゼ（MMP）の発現抑制など）、抗血栓作用、抗酸化作用などの多面的機能（pleiotropic effect）を持つことが近年明らかになっている。

スタチンの抗血栓作用については、これまでLDLの酸化抑制による内皮細胞の抗血栓作用改善（Atherosclerosis, Vol. 138, p271-280 (1998)）、凝固第

VII因子の活性化抑制作用 (Atheroscler Tromb Vasc Biol, Vol. 17, p265-272 (1997))、血小板機能の亢進抑制作用 (Atheroscler Tromb Vasc Biol, Vol. 15, p247-251 (1995))、血小板の粘着抑制作用 (Atheroscler Tromb Vasc Biol, Vol. 19, p1812-1817 (1999)) などが報告されている。

しかしながら、スタチンのTMの発現促進作用については全く知られていなかった。

発明の開示

本発明は、HMG-CoA還元酵素阻害剤、特に (+) - (3R, 5S, 6E) - 7 - [2 - シクロプロピル - 4 - (4 - フルオロフェニル) - 3 - キノリル] - 3, 5 - ジヒドロキシ - 6 - ヘプテン酸又はその塩の新規な薬理作用を提供するものである。より詳細には、本発明は、TMの発現を調節できる薬剤を提供することにある。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明のスタチンによるトロンボモジュリンの抗原量の変化の結果を示すものである。第1図の縦軸はTM抗原量/細胞蛋白質をコントロールに対する比率(%)で示したものである。横軸は各スタチンの濃度を示す。各濃度における白抜き部分はピタバスタチン(Pit)、黒塗り部分はフルバスタチン(Flu)、及び斜線部分はプラバスタチン(Pra)をそれぞれ示す。

第2図は、本発明のピタバスタチンによるトロンボモジュリンの発現量の経時変化を示したものである。第2図の縦軸はTMの発現量をコントロールに対する比率(%)で示したものである。横軸は時間(時間)を示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明者らは、血管内皮細胞を用いてTMのmRNA及び蛋白の発現に影響を及ぼす物質を探索した結果、全く意外にもスタチンにTMの発現促進作用が有り、しかも特にピタバスタチンに強いTM発現促進作用が有ることを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、HMG-CoA還元酵素阻害剤、特に (+) - (3R, 5S, 6E) - 7 - [2 - シクロプロピル - 4 - (4 - フルオロフェニル) - 3 - キノリル] - 3, 5 - ジヒドロキシ - 6 - ヘプテン酸又はその塩を有効成分とするTM発現促進剤を提供するものである。

スタチンは高脂血症治療剤として知られている化合物であるが、スタチンがTMの発現に作用するか否かについては全く知られていない。

スタチンとしては、特に制限されるものではないが、例えば米国特許第4, 739, 073号及びヨーロッパ特許出願公開第114, 027号；ヨーロッパ特許出願公開第367, 895号；米国特許第5, 001, 255号、第4, 613, 610号、第4, 851, 427号、第4, 755, 606号及び第4, 808, 607号、第4, 751, 235号、第4, 939, 159号、第4, 822, 799号、第4, 804, 679号、第4, 876, 280号、第4, 829, 081号、第4, 927, 851号、第4, 588, 715号；及びF. G. Kathawala, Medical Research Reviews, 11, 121-146 (1991)、また、ヨーロッパ特許出願公開第304, 063号；ヨーロッパ特許出願公開第330, 057号及び米国特許第5, 026, 708号及び第4, 868, 185号；ヨーロッパ特許出願公開第324, 347号；ヨーロッパ特許出願公開第300, 278号；米国特許第5, 013, 749号、第5, 872, 130号及び第5, 856, 336号、米国特許第4, 231, 938号、米国特許第4, 444, 784号、米国特許第4, 346, 227号、米国特許第5, 354, 772号、米国特許第5, 273, 995号、米国特許第5, 177, 080号、米国特許第3, 983, 140号、日本国特許第2, 648, 897号、米国特許第5, 260, 440号あるいはBioorganic & Medicinal Chemistry, 5, pp437, (1977) および日本国特許第2, 569, 746号、ヨーロッパ特許第304, 063号あるいは米国特許第5, 856, 336号に記載されている。

特に、米国特許第4, 231, 938号にはロバスタチンが、米国特許第4, 444, 784号にはシンバスタチンが、米国特許第4, 346, 227号にはプラバスタチンが、米国特許第5, 354, 772号にはフルバスタチンが、米国特許第5, 273, 995号にはアトルバスタチンが、米国特許第5, 177,

080号にはセリバスタチンが、米国特許第3,983,140号にはメバスタチンが、また日本国特許第2,648,897号、米国特許第5,260,440号あるいはBioorganic & Medicinal Chemistry, 5, pp437, (1977)にはロスバスタチン、すなわちモノカルシウムビス(+) - 7 - [4 - (4 - フルオロフェニル) - 6 - イソプロピル - 2 - (N - メチル - N - メタンスルフォニルアミノピリミジン) - 5 - イル] - (3R, 5S) - ジヒドロキシー (E) - 6 - ヘプテノエートが記載されている。同様にピタバスタチンカルシウムは、日本国特許第2,569,746号、ヨーロッパ特許第304,063号あるいは米国特許第5,856,336号に記載されている。

本発明のTM発現促進剤は、抗血液凝固作用及び血小板凝集抑制作用を有し、抗血液凝固活性をコントロールすることが望まれる疾患の予防及び治療において、抗血栓剤（抗血小板剤及び／又は抗凝固剤）及び／又は敗血症の予防・治療剤として有用である。

本発明のTM発現促進剤を医薬として用いる場合の投与形態としては、例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤などによる経口投与又は静脈内注射剤、筋肉注射剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、点鼻剤などによる非経口投与が挙げられる。またこのような種々の剤型の医薬製剤を調製するには、この有効成分を単独で、又は他の薬学的に許容される賦形剤、結合剤、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、矯味剤、香料、被膜剤、担体、希釈剤などを適宜組み合わせて用いることができる。これらの投与形態のうち、好ましい形態は経口投与であり、経口投与用製剤の調製にあたっては、有効成分の安定性を考慮して例えば特開平2-6406号、特許第2,774,037号、WO97/23200の記載に従ってpHを調整するのが好ましい。本発明の医薬の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状等によって異なるが、通常成人の場合、一般式(1)で表される化合物として、一日0.01~1000mg、特に0.1~100mgを、1回又は数回に分けて経口投与又は非経口投与するのが好ましい。

本発明のTM発現促進剤は、経口投与又は非経口投与により投与される。

本発明のTM発現促進剤の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状等によっ

て異なるが、通常成人の場合、一日 0.01 ~ 1000 mg、好ましくは 0.1 ~ 100 mg を 1 ~ 3 回に分けて投与するのが好ましい。

なお、特願 2002-111247 明細書に記載された内容を、本明細書に、すべて取り込む。

実施例

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら限定されるものではない。

実施例 1

正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) を 2 % (vol/vol) 牛胎児血清、50 μ g/ml ゲンタマイシン、50 ng/ml アンフォテリシン B、10 ng/ml hEGF、5 ng/ml hFGF-B、1 μ g/ml ハイドロコルチゾン及び 10 μ g/ml ヘパリンを添加した HuMedia-EG2 培地 (クラボウ社) の 24 穴プレートに 2×10^5 cells/well になるように撒く。次に、各検体 (ピタバスタチン、フルバスタチン及びプラバスタチン) を終濃度 10^{-7} M ~ 10^{-3} M となるように培地に加え、5 % CO₂、37 °C の条件下で 24 時間培養した。培養後、リン酸緩衝液 (pH 7.4) で 3 回洗浄し、0.15 mol/L NaCl、0.5 % Triton X-100、及び 1 mmol/L ベンズアミドハイドロクロライドを含む 50 mmol/L トリス-塩酸 (pH 7.4) に懸濁後、TM を抽出した。TM 抗原量は TMmAb 2, 11 及び 20 モノクローナル抗体を用いて酵素免疫測定法により測定した。コントロール (等量の DMSO (0.01 %) を含む) を 100 % とした場合の、各検体の添加による細胞蛋白質中の TM 抗原の存在量に与える影響を測定した。

結果を第 1 図に示す。第 1 図の縦軸は TM 抗原量 / 細胞蛋白質をコントロールに対する比率 (%) で示したものである。横軸は各スタチンの濃度を示す。各濃度における白抜き部分はピタバスタチン (P i t)、黒塗り部分はフルバスタチン (F l u)、及び斜線部分はプラバスタチン (P r a) をそれぞれ示す。

この結果、何れのスタチンも TM の発現量を増大させることがわかる。特にピ

タバスタチン (P i t) による増加量が顕著であることがわかる。

実施例 2

HUVECsを2% (vol/vol) 牛胎児血清、50 μ g/ml ゲンタマイシン、50 ng/ml アンフォテリシン B、10 ng/ml hEGF、5 ng/ml hFGF-B、1 μ g/ml ハイドロコルチゾン及び10 μ g/ml ヘパリンを添加したHuMedia-EG2 培地 (クラボウ社) に撒き、ピタバスタチン (終濃度 10^{-5} M) を培地に加え、5% CO₂、37℃ の条件下で一定時間毎培養した。総RNAはTRIZOL 試薬 (ライフ テクノロジー社) を用いて抽出し、定法のノーザンブロット法によりTM m-RNAの発現量を測定した

結果を第2図に示す。第2図の縦軸はTMの発現量をコントロールに対する比率 (%) で示したものである。横軸は時間 (時間) を示す。1.2時間後から急激に発現量が増加していることがわかる。

産業上の利用可能性

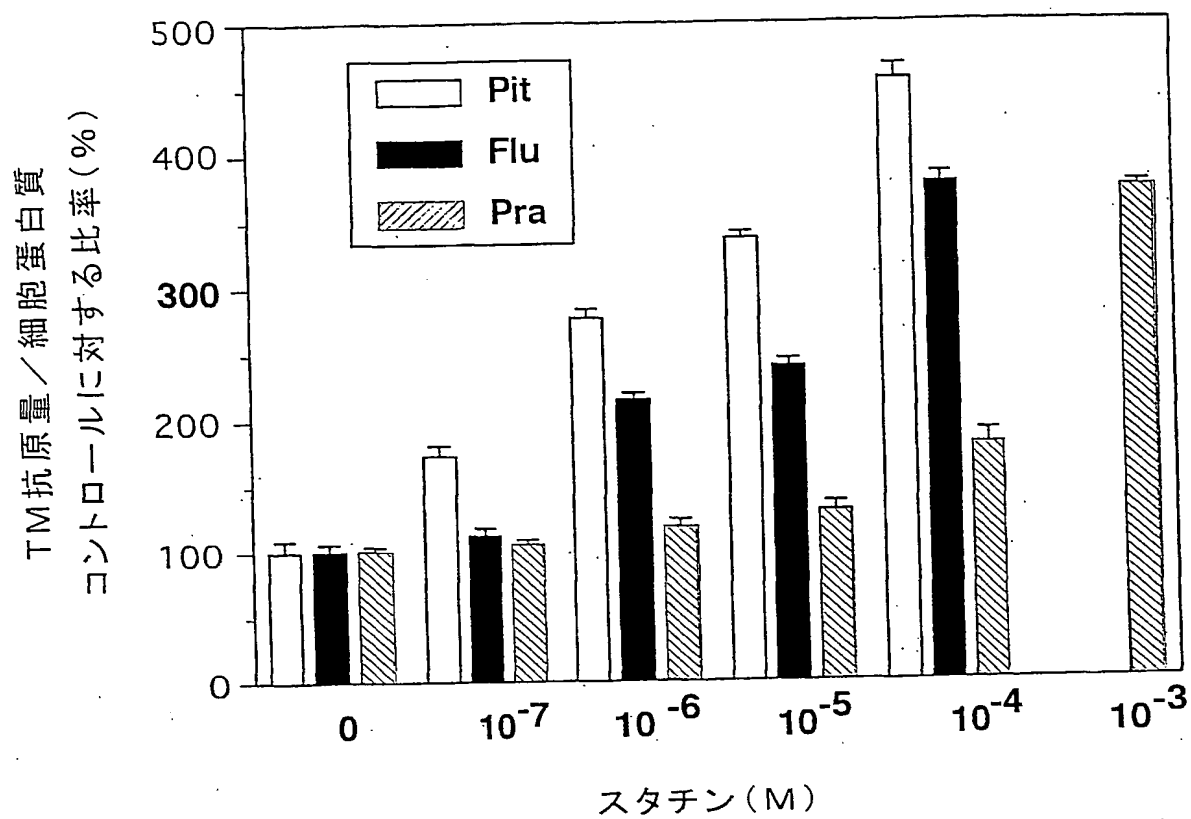
本発明によれば、スタチンが主に血液凝固系の調節因子として機能しているTMの発現を促進し、特にピタバスタチンは他のスタチンに比較し有意にTMの発現を促進できるので、抗血栓剤及び/又は敗血症予防・治療剤として有用である。

請 求 の 範 囲

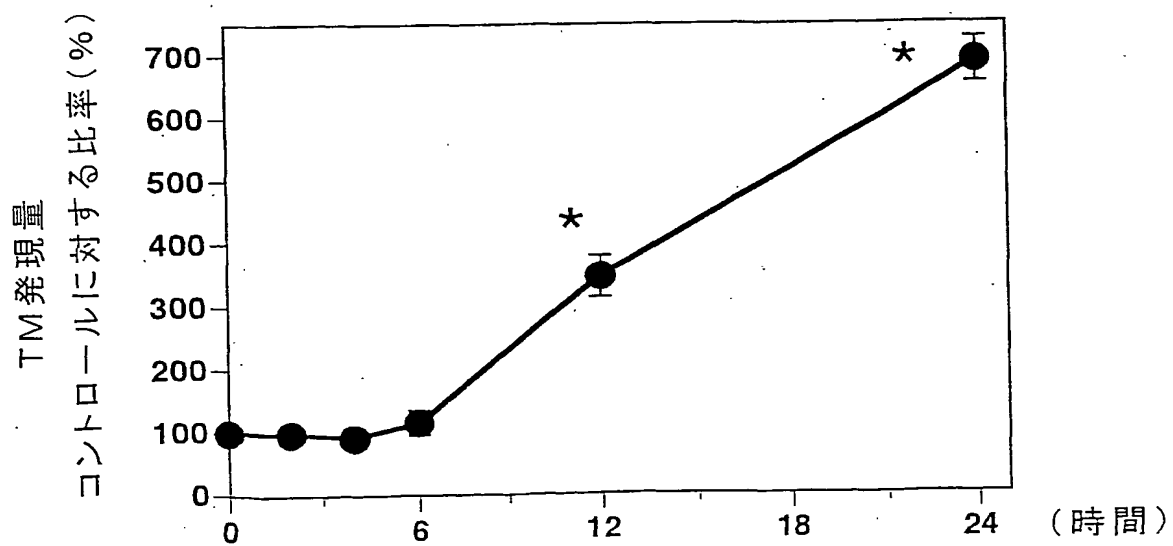
1. HMG-C o A還元酵素阻害剤を有効成分とするトロンボモジュリン発現促進剤。
2. HMG-C o A還元酵素阻害剤が、(+)-(3 R, 5 S, 6 E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩である請求の範囲第1項に記載のトロンボモジュリン発現促進剤。
3. (+)-(3 R, 5 S, 6 E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩を有効成分とする抗血栓剤。
4. (+)-(3 R, 5 S, 6 E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩を有効成分とする敗血症予防・治療剤。
5. (+)-(3 R, 5 S, 6 E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩を有効成分とする抗血小板剤。
6. (+)-(3 R, 5 S, 6 E)-7-[2-シクロプロピル-4-(4-フルオロフェニル)-3-キノリル]-3, 5-ジヒドロキシ-6-ヘプテン酸又はその塩を有効成分とする抗凝固剤。



第 1 図



第 2 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)